

Citoletális duzzasztó toxinok állati és emberi patogén *Escherichia coliban*

Irodalmi áttekintés

Sváb Domonkos,* Tóth István

MTA Agrártudományi Kutatóközpont Állatorvos-tudományi Intézete, Hungária krt. 21., H-
1143 Budapest

*E-mail: svab@vmri.hu

Összefoglalás

A citoletális duzzasztó (distendig) toxin (CDT) egyre gyakrabban detektált és igen elterjedt fehérje természetű bakteriális toxin. A CDT-termelés gyakran jellemzi a különböző intesztinális és extraintesztinális kórképekből származó emberi és állati eredetű *Escherichia coli* törzseket. Mivel a CDT egy viszonylag új toxin családot jelent és magyarnyelvű szakirodalom kevés áll rendelkezésre, a szerzők jelen közleményükben áttekintik a CDT-termelő baktériumoknak, elsősorban *E. coli* törzsek járványtanát, a CDT sejtszintű hatásmechanizmusát, a patogenezisben játszott szerepét és a CDT elterjedtségének genetikai hátterét.

Summary

Cytotoxic distending toxins are widespread bacterial protein toxins which are detected with increasing frequency. CDT production is characteristic in *Escherichia coli* strains of human and animal origin, both from intestinal and extraintestinal infections. CDT represent a relatively new family of toxins, and there are very few works on the subject written in Hungarian. Therefore in the present work the authors summarize the epidemiology of CDT-producing bacteria with emphasis on *E. coli* strains, CDT's mode of action on the cellular level, its role in pathogenesis and the genetic background of its distribution.

A CDT felfedezése

A citoletális duzzasztó toxin (CDT) az elsőként leírt sejtciklust gátló hatású toxin (gátló hatású ciklomodulin 44, 49). JOHNSON és LIOR 1988-ban (32) hasmenéses gyermekekből izolált, O128 szerocsoportba tartozó *Escherichia coli* törzsekben fedezték fel a toxint. A törzsek citotoxicitását vizsgálták kínai aranyhörcsög petefészek (chinese hamster ovary, CHO) sejtenyészeteken. A kezelt CHO sejtek 24 órán belül jellegzetes megnyúlt morfológiát mutattak, 72 órán belül pedig óriási, egymagvú sejtek alakultak ki, melyek 5-7 nap után elpusztultak (**1. ábra**). Ezen specifikus sejtmorfológiai változás miatt, az új virulenciafaktort citoletális duzzasztó toxinnak (cytolethal distending toxin, CDT) nevezték el (32).

Felfedezése óta a CDT-t számos kórokozó *E. coli* törzsből kimutatták. Az *E. coli*-n kívül számos más Gram-negatív, állati és emberi kórokozóban is kimutatták CDT jelenlétét. Ezen CDT-termelő patogénekről, JINADASA és mtsai (28), valamint GARGI és mtsai (18) foglalják össze jelen ismereteinket. Mivel csoportunk is több CDT-hordozó *E. coli* törzset izolált és jellemzett, valamint azokban a CDT genetikai hátterét vizsgálta (60, 58, 59), az alábbiakban elsősorban az *E. coli* által termelt CDT-kről fogunk részletesebben szólni.

A CDT járványtana *E. coli* törzsekben

Az *E. coli* törzsek esetében CDT-termelést számos különböző szero- és patotípusba tartozó törzsben mutatták ki (**1. táblázat**). A CDT-termelő *E. coli* törzsek által képviselt patotípusok közé tartoznak az alábbiak:

- enterohaemorrhágiás/Shiga-toxin termelő *E. coli* (EHEC/STEC 4, 47)
- enteropatogén *E. coli* (EPEC, 50, 58)
- uropatogén *E. coli* (UPEC, 42, 58, 13)
- nekrotoxikus *E. coli* (NTEC, 42, 62)

- újszülöttek agyhártyagyulladását okozó *E. coli* (newborn meningitis *E. coli*, NMEC, 29)
- extraintesztinális patogén *E. coli* (ExPEC, 58, 4)
- madár patogén *E. coli* (avian pathogenic *E. coli*, APEC, 31, 57).

CDT-t termel ezeken kívül számos olyan törzs is, melyeket nem lehet az ismert patotípusokba besorolni (26, 61). Beszámoltak olyan patogén *E. coli* törzsekről is, melyeknek a CDT az egyetlen azonosított virulenciafaktora. Ezen törzsekre vezették be előbb a „CLDTEC” (26), majd a CTEC (46) rövidítést. Az CTEC törzsek közös jellemzője volt, hogy öt évesnél fiatalabb hasmenéses gyermekekből származtak (26, 46).

Jelenleg *E. coli*-ban a CDT-nek öt típusát (CDT-I-V) különböztetjük meg. Ezen típusokba való sorolás a *cdt* gén DNS szekvenciája alapján történik (ld. Adatok az EcolCDT genetikájáról c. szakasz). Az alábbiakban áttekintjük az egyes CDT típusok elterjedtségét a kórokozó *E. coli* törzsekben.

A CDT-I elsősorban az EPEC törzsekben fordul elő, gyakran jellemzi az O127:H7 és O86a:H34 szerotípusú törzseket (50, 2, 34). CDT-I-et gyakran termelnek uropatogén törzsek is (13), valamint STEC törzsekben is kimutatták (8). Izoláltak CDT-I termelő törzseket bárány- és sertéstetemekből vett kenetekből is, melyek az O22, O139, O147 és O149 szerocsoportokat képviselték (33); valamint szeptikémiás csirkéből (31).

A CDT-II-t elsősorban olyan törzsekből mutatták ki, melyek humán emésztőrendszeri fertőzéseket okoznak (52, 26). Magyarországon CDT-II termelő törzset tudomásunk szerint eddig nem azonosítottak.

A CDT-III jelenléte szarvasmarha eredetű NTEC törzsekre jellemző, különösen az O127 szerocsoport tagjaira (9, 58, 47, 7). CDT-III termelő törzseket izoláltak szeptikémiás

sertésekből (58), valamint szarvasmarha- és sertéstetemekből is (33). Jellemző módon a CDT-III- termelő törzsek rendelkeznek a citotoxikus nekrotizáló faktor 2-es típusával is (CNF2, 62, 19, 38, 7). Ezen toxin gének ugyanazon patogenitási szigeten (PAI, pathogenicity island) foglalnak helyet (31), e sziget része egy konjugatív virulencia plazmidnak, amely a baktériumok tapadását elősegítő adhezinek termelését is kódolja (52, 31).

A CDT-IV-et elsősorban extraintesztinális, mind állati, mind humán eredetű *E. coli* törzsekből mutatták ki (58, 59, 60). Az állati eredetű törzsek részben választási hasmenéses malacokból (60), részben szeptikémiás sertésekből származtak (58). Kimutattak CDT-IV-et baromfi eredetű szeptikémikus törzsekből is (58), valamint CDT-IV termelő törzseket találtak szarvasmarha-, bárány-, és sertéstetemekből vett kenetekben (33). A változatos gazda- és betegségspektrumnak megfelelően a CDT-IV termelő *E. coli* törzsek számos szerotípust reprezentálnak (60, 33, 58). E törzsek gyakran hemolizáló, és sokszor termelik a citotoxikus nekrotizáló faktor 1-es típusát is (CNF1, 59).

A CDT-V-termelés leginkább a humán eredetű O157-es EHEC és nem-O157-es STEC törzsek jellemzője (27). de kimutatták egészséges szarvasmarhákból származó atípusos (*stx* és *eaa* negatív) *E. coli* O157 törzsekben is (61). A CDT-V gyakran megtalálható a szorbitbontó (SF) O157:NM STEC törzsekben is (27, 4, 48, 34, 64). Noha a CDT-V-öt azonosították egyéb szerotípusú törzsekben is (61, 26), de az O157:NM STEC törzsekben eddig ez az egyetlen azonosított CDT-típus (4). A CDT-V termelés azonban nemcsak ezen szerotípusú törzseket jellemezheti, hiszen egy viszonylag ritka szerotípust jelentő O91:H21 STEC törzsek 70%-a is hordozta a CDT-V-öt (6).

A CDT-k nevezéktana

Fontos szólni a CDT nevezéktanáról is, hiszen számos baktériumfaj patogén törzseit jellemzi a CDT-termelés, továbbá számos, a patomechanizmust érintő vizsgálatot végeztek más patogén baktériumokból származó CDT-vel.

A legújabb nomenklátúra szerint (28) a CDT-t hordozó organizmus genus-nevének első betűje és fajnévének első három betűje utal a toxin eredetére. Ennek megfelelően az *E. coli* által termelt CDT neve EcolCDT, a *Campylobacter jejuni* által termelt toxiné pedig CjejCDT. Az alábbiakban EcolCDT esetében, amennyiben a típus is ismert, azokra a korábbiakban megszokott módon (CDT-I – CDT-V.) hivatkozunk.

A CDT hatásmechanizmusa

A CDT holotoxin három alegységből álló, AB₂ típusú fehérje toxin, melyben a CdtB fehérje az aktív alegység, míg a CdtA és CdtC fehérjék a CdtB-nek a célsejtbe való eljuttatására szolgálnak (35). A CDT fehérjéket a *cdtABC* operon kódolja, mely az alegységeket kódoló, három egymást követő, részben átfedő génből áll. Az *E. coli* esetében a *cdtA*, *cdtB* és *cdtC* gének hossza rendre 714-777, 810-822, illetve 546-573 bázispár (GenBank számok: *cdt-I* U03293.1, *cdt-II* U04208.1, *cdt-III* U89305.1, *cdt-IV* AY578329.1, *cdt-V* AJ508930.1). Az egyes gének által kódolt fehérjék tömege rendre 27, 29, ill. 20 kDa (544).

A CdtB az emlősök DNáz-I enzimével mutat jelentős hasonlóságot (14) és DNáz aktivitását számos in vitro kísérlet is igazolta (36, 23). Az *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* által termelt CDT (AactCDT) kristályszerkezetének modellezése megmutatta, hogy a CdtB-ben megtalálhatók az emlős DNáz-I-ével megegyező konzervált aminosavak (43).

A CdtB célsejtbe való bejutásának mechanizmusa még nem ismert minden részletében. A CDT specifikus receptorát ez idáig nem sikerült azonosítani. Ennek oka részben az lehet,

hogy számos CDT esetében fajspecifitás figyelhető meg az érzékeny sejtvonalak célmolekuláit illetően (15). A közelmúltban azonban tisztázódott néhány kulcsfontosságú molekula szerepe a CDT-nek a célsejthez való kapcsolódásában. A CDT-II-nek a célsejthez való kötődésében a fukóz játszhat szerepet (41), továbbá CDT-II holotoxint a baktérium külső membrán vezikulumokban (outer membrane vesicle, OMV) bocsátja ki (3). A CDT-III-nak a CHO sejtekhez való tapadáshoz a fukóz mellett szüksége van koleszterinekre és glikoszfingolipidekre is a célsejt membránjában (15). A célsejtbe került CdtB alegység a Golgi-készüléken és az endoplazmatikus retikulumon keresztül retrográd transzporttal jut el a sejtmagig. (11, 21, 22). Ezen folyamatban nagy valószínűséggel szerepe van a CDT-II esetében már felfedezett, a CdtB C-terminálisa közelében levő nukleáris lokalizációs szignálnak is (40).

Miután a CdtB elérte a célsejt magját, ott duplaszálú töréseket okoz annak DNS-ében. A DNS károsodás következtében ataxia telangiectasia mutated (ATM) kináztól (12) függő kaszkád folyamat indul el, melynek végeredményeként *in vitro* körülmények között az emlős sejtek osztódása a sejtciklus G2 fázisában, közvetlenül a mitózis előtt leáll (10, 65, 13) Ezen szignáltranszdukciós folyamatról ad áttekintést a HEYWOOD és mtsai közleményének (25) nyomán készült **2. ábra**. Az osztódásukban megakadályozott sejtek kromoszóma állománya 4N, amely áramlási citofluorimetriával jól követhető (51, 10, 12, 5, 59). Noha az eddig vizsgált mesenchymális eredetű (CHO, HeLa stb.) sejtvonalak sejtciklusa CDT hatására a G2 fázisban áll le, fibroblaszt eredetű sejtekben a G1 fázisban bekövetkezett sejtciklus blokkolásról számoltak be (24, 63).

A CDT lehetséges szerepe a patogenezisben

Irodalmi adatok szerint a CDT-nek a fertőzés akut fázisában nincs jelentős szerepe (37, 66, 62). Több állatmodellen demonstrálták azonban, hogy krónikus fertőzésekben a CDT-nek

fontos funkciója van. A *Campylobacter jejuni* invázióját a CjejCDT jelentősen segíti mind az ún. severe combined immune deficiency (SCID) egerekben (53), a nekrózis faktor κ B-hiányos egerekben (16), valamint a mucin-hiányos egerekben (39) is. Ezen krónikus modellekben a CDT egy gyulladásos jellegű immunválasz kialakulását segíti elő. Az immunválasz, noha segíti a gazda védekezését az inváziós baktériumok ellen, egyúttal fokozza is azok ürítését, és így elősegítheti terjedésüket (28). A CDT által kiváltott krónikus gyulladás pedig összefüggésben lehet a karcinogenezissel is (20).

A sejtosztódás gátlása a különböző CDT-termelő baktériumok fertőzési folyamatát különböző módokon segítheti (25, 49). A *Campylobacter*hez köthető vastagbélgyulladás esetében, a fentebb említett mechanizmus szerint a CDT a baktérium kolonizációját segíti (53, 16, 39). A *Haemophilus ducreyi* esetében az immunválasz gyengítésével (65) és a regenerációs folyamatok lassításával (45) járulhat hozzá a toxin a betegség súlyosbodásához. A CDT ilyen jellegű szerepét a *H. ducreyi* által okozott lágyfekély és az *A. actinomycetemcomitans* által okozot fogínygyulladás esetében GUERRA és munkatársai tekintik át (20).

HEYWOOD és munkatársai (25) összefoglaló közleményükben feltételezik, hogy a CDT-termelő *E. coli* törzsek valószínűleg opportunistá kórokozók, és a CDT hatásának nem közvetlenül a belfertőzésben van szerepe. Patogén CDT-termelő *E. coli* törzsek esetében pedig az egyéb virulencia faktorok hatásával párhuzamosan nehéz megfigyelni és elkülöníteni a specifikusan a CDT-hez köthető hatásokat (49). A CDT patogenezisben játszott szerepét azonban az epidemiológiai adatok valószínűsítik, hiszen a CDT-t súlyos megbetegedésekből származó patogén *E. coli* törzsek széles skálájából izolálták (27, 4, 26, 13). Ezen eredményekkel összhangban PANDEY és munkatársai különböző sejtenyészeteken vizsgálva az általuk izolált *E. coli* törzsek CDT-hatását azt találták, hogy a súlyosabb tüneteket mutató betegekből izolált törzsek CDT-hatása drasztikusabb volt (50). Mindezen adatokat figyelembe véve valószínűnek tűnik, hogy a CDT valóban fontos virulencia-faktora a patogén *E. coli*

törzseknek, megválaszolandó kérdés azonban, hogy a betegség kialakulásának mely szakaszában játszik szerepet a toxin.

Adatok az EcolCDT genetikájáról és evolúciójáról

Az egyes *cdt* gének szekvencia-analízise azt mutatja, hogy az EcolCDT típusai két fő filogenetikai csoportba oszthatók, az egyik csoportot a CDT-I és -IV típusok alkotják, a másikat a CDT-II, -III, -V típusok (59). A két fő csoport tagjai az egyes gének hosszában is különböznek egymástól: a *cdtA*, *cdtB* és *cdtC* gének hossza rendre 714, 822 és 573 bp a *cdt-I* és *cdt-IV* esetében, míg a *cdt-II*, *cdt-III* és *cdt-V* operonok megfelelő génjeinek hossza 777, 810 és 546 bp. A *cdt-I* és -IV operonok közeli rokonságát támasztja alá az is, hogy ezen operonokat egymáshoz igen hasonló lamboid profág gének határolják (2, 59). Ezen profágok feltehetőleg egy közös őstől származnak, mely fág-transzdukcióval terjedt el a különböző törzsek közt. Ezen fágoknak az eltérő gazdatörzsek genomjába történő integrációja, valamint a gazdákhoz való adaptációjuk vezethetett a körükben tapasztalható szekvencia-heterogenitáshoz, és a fágok temperálódásához.

A *cdtB* szekvenciája jóval konzerváltabb, mint a *cdtA* és *cdtC* géné. Ez arra utal, hogy az aktív CdtB alegységen jóval nagyobb a szelekciós nyomás, ami valószínűsíti a CDT virulenciafaktor szerepét. Az eddig megismert *cdt* operonok mind mobilis genetikai elemek részei, vagy kapcsolódnak mobilis genetikai elemekhez (1. táblázat).

A humán EPEC O127:H7 és O142:H6 törzsekben a *cdt-I* operon egy 60 kb méretű indukálható lambdoid profág genomjában foglal helyet. A CDT-I fágban a *cdt*-n kívül megtalálható egy másik citotoxin, a sejtciklus gátló faktor (cell cycle inhibition factor, *cif*) génje is (2).

A *cdt-III* operon a pVir68 nevű nagyméretű plazmidon foglal helyet, egy patogenitási szigeten, melynek része több más virulenciafaktort kódoló gén és operon, úgy mint a *cnf2*, az F17b fimbria génjei, a *tibAC* fimbria-kódoló operon, és hemolizin gének (51, 30).

A *cdt-IV* operont a *cdt-I*-éhez nagyon hasonló lambdoid profág gének határolják, (59). A legteljesebb információt egy madár patogén *E. coli* törzs, az APEC O1 teljes genom szekvenciája adta (36). Az APEC O1 törzs genomjában a *cdt-IV* operont két profág határolja, valamint tRNS gének és egy patogenitási sziget. A profágok struktúrgénjei nagy hasonlóságot mutatnak az *stx2* fágok génjeivel, ám a lambdoid profágon belül a *cdt* operon integrációs helye is más, mint a hasonló szerkezetű *stx2* fágok genomján belül az *stx* géneké (31).

A *cdt-V* operont az O157:NM és O157:H7 szerotípusú STEC törzsekben (27), valamint változatos szerotípusokat képviselő CTEC törzsekben (26) P2-szerű profág-gének határolják. Környezeti eredetű O157:H7, O91:H21 és más szerotípusú STEC törzsekből sikerült indukálható P2-szerű, *cdt-V* hordozó fágokat is izolálni, azonban a *cdt-V* hordozó törzsek többségében a CDT fág nem bizonyult indukálhatónak (1). Hasonló eredményről számoltak be a *cdt-I* hordozó lambdoid profág esetében is (2). Ezen eredmények arra utalnak, hogy a *cdt-V* hordozó P2-fágok között szekvencia-heterogenitás van. Vélhetően a P2-fágok zöme deléció és degradáció eredményeként profággá szelídült. Ezt támasztja alá FRIEDRICH és munkatársainak megfigyelése is, akik a *cdt-V* termelő O157:H7 STEC törzsek között is jelentős klonális diverzitást tapasztaltak. A vizsgált STEC törzsek eltérő fágtípusúak voltak, amely jelenség mögött a sejtfelszíni fág-receptorok különbözősége mellett szerepet játszhat a profág és fág által közvetített fágimmunitás is (17).

Az *E. coli* törzsek *cdt* operonjának idegen eredetére utal GC arányuk is, mely 41 és 44% közötti, azaz jóval alacsonyabb, mint az *E. coli* genom átlagos GC aránya (50,8%; 56). Ezen adatok is arra utalnak, hogy a horizontális géntranszfer jelentős szerepet játszott a CDT

terjedésében és genetikai változatainak jelenlegi eloszlásában. A *cdt* operonok és határoló régiók genetikai diverzitása pedig a vektorok gazdához történt adaptációjának lehet a következménye.

Következtetések

- A CDT patogén *E. coli* törzsek széles skálájában, számos szero- és patotípusban jelen lévő virulenciafaktor.
- A CDT pontos sejtszintű hatásmechanizmusáról az elmúlt 25 évben számos részletre fény derült. A CdtB alegység DNáz aktivitása révén közvetlenül felelős a toxinhatásért. Az *E. coli* által termelt CDT esetében viszont tisztázásra szorul még a CdtA és CdtC alegységek pontos szerepe, és az egyes CDT-típusok esetleges receptor-specifitása.
- A CDT-vel végzett *in vitro* és *in vivo* kísérletek eredményei arra utalnak, hogy a toxinnak a krónikus gyulladásos jellegű kórképek kialakulásában és az immunválasz befolyásolásában lehet szerepe.
- A CDT széles körű elterjedtségét a horizontális géntranszfer jelensége magyarázhatja. Éppen ezért igen valószínű a CDT felbukkanása további szero- és patotípusú *E. coli* törzsekben, valamint nem zárható ki esetleges újabb CDT-variánsok felfedezése sem. A vektorul szolgáló mobilis genetikai elemek kiterjedtebb és alaposabb vizsgálata további adatokkal szolgálhatna a CDT elterjedésének evolúciós és genetikai hátteréről.

Köszönetnyilvánítás

Munkánk az OTKA K 81252 számú pályázatának támogatásával valósult meg.

Irodalom

1. ALLUÉ-GUARDIA, A. – GARCÍA-ALJARO, C. – MUNIESA, M.: Bacteriophage-encoding cytolethal distending toxin type V gene induced from nonclinical *Escherichia coli* isolates. *Infect. Immun.*, 2011. 79. 3262–3272.
2. ASAKURA, M. – HINENOYA, A. et al.: An inducible lambdoid prophage encoding cytolethal distending toxin (CDT-I) and a type III effector protein in enteropathogenic *Escherichia coli*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 2007. 104. 14483–14488.
3. BERLANDA SCORZA, F. – DORO, F. et al.: Proteomics characterization of outer membrane vesicles from the extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* DeltatoIR IHE3034 mutant. *Mol. Cell Proteomics*, 2008. 7. 473–485.
4. BIELASZEWSKA, M. – FELL, M. et al.: Characterization of cytolethal distending toxin genes and expression in Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains of non-O157 serogroups. *Infect. Immun.*, 2004. 72. 1812–1816.
5. BIELASZEWSKA, M. – SINHA, B. et al.: Cytolethal distending toxin from Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157 causes irreversible G2/M arrest, inhibition of proliferation, and death of human endothelial cells. *Infect. Immun.*, 2005. 73. 552–562.
6. BIELASZEWSKA, M. – STOEWEL, F. et al.: Shiga toxin, cytolethal distending toxin and hemolysin repertoires in clinical *Escherichia coli* O91 isolates. *J. Clin. Microbiol.*, 2009. 47. 2061–2066.
7. BORRIELLO, G. – LUCIBELLI, M. G. et al.: Characterization of enterotoxigenic *E. coli* (ETEC), Shiga-toxin producing *E. coli* (STEC) and necrotoxigenic *E. coli* (NTEC) isolated from diarrhoeic mediterranean water buffalo calves (*Bubalus bubalis*). *Res. Vet. Sci.*, 2012. 93. 18–22.

8. BOUZARI, S. – OLOOMI, M. – OSWALD, E.: Detection of the cytolethal distending toxin locus *cdtb* among diarrheagenic *Escherichia coli* isolates from humans in Iran. *Res. Microbiol.*, 2005. *156*. 137–144.
9. CLARK, C. G. – JOHNSON, S. T. et al.: PCR for detection of CDT-III and the relative frequencies of cytolethal distending toxin variant-producing *Escherichia coli* isolates from humans and cattle. *J. Clin. Microbiol.*, 2002. *40*. 2671–2674.
10. COMAYRAS, C. – TASCA, C. et al.: *Escherichia coli* cytolethal distending toxin blocks the HeLa cell cycle at the G2/M transition by preventing *cdc2* protein kinase dephosphorylation and activation. *Infect. Immun.*, 1997. *65*(12). 5088–5095.
11. CORTES-BRATTI, X. – CHAVES-OLARTE, E. et al.: Cellular internalization of cytolethal distending toxin from *Haemophilus ducreyi*. *Infect. Immun.*, 2000. *68*. 6903–6911.
12. CORTES-BRATTI, X. – KARLSSON, C. et al.: The *Haemophilus ducreyi* cytolethal distending toxin induces cell cycle arrest and apoptosis via the DNA damage checkpoint pathways. *J. Biol. Chem.*, 2001. *276*. 5296–5302.
13. DUBOIS, D. – DELMAS, J. et al.: Cyclomodulins in urosepsis strains of *Escherichia coli*. *J. Clin. Microbiol.*, 2010. *48*. 2122–2129.
14. ELWELL, C. A. – DREYFUS, L. A.: DNase I homologous residues in *cdtb* are critical for cytolethal distending toxin-mediated cell cycle arrest. *Mol. Microbiol.*, 2000. *37*. 952–963.
15. ESHRAGHI, A. – MALDONADO-AROCHO, F. J. et al.: Cytolethal distending toxin family members are differentially affected by alterations in host glycans and membrane cholesterol. *J. Biol. Chem.*, 2010. *285*. 18199–18207.

16. FOX, J. G. – ROGERS, A. B. et al.: Gastroenteritis in NF-kappa b-deficient mice is produced with wild-type *Campylobacter jejuni* but not with *C. jejuni* lacking cytolethal distending toxin despite persistent colonization with both strains. *Infect. Immun.*, 2004. 72. 1116–1125.
17. FRIEDRICH, A. W. – LU, S. et al.: Cytolethal distending toxin in *Escherichia coli* O157:H7: spectrum of conservation, structure, and endothelial toxicity. *J. Clin. Microbiol.*, 2006. 44. 1844–1846.
18. GARGI, A. – RENO, M. – BLANKE, S. R.: Bacterial modulation of the eukaryotic cell cycle: are all cytolethal distending toxins created equally? *Front. Cell. Inf. Microbio.*, 2012. 2. fcimb.2012.00124.
19. GHANBARPOUR, R. – OSWALD, E.: Characteristics and virulence genes of *Escherichia coli* isolated from septicemic calves in southeast of Iran. *Trop Anim Health Prod*, 2009. 41. 1091–1099.
20. GUERRA, L. – CORTES-BRATTI, X. et al.: The biology of cytolethal distending toxins. *Toxins*, 2011. 3. 172–190.
21. GUERRA, L. – NEMEC, K. N. et al.: A novel mode of translocation for cytolethal distending toxin. *Biochim. Biophys. Acta*, 2009. 1793. 489–495.
22. GUERRA, L. – TETER, K. et al.: Cellular internalization of cytolethal distending toxin: a new end to a known pathway. *Cell. Microbiol.*, 2005. 7. 921–934.
23. HAGHJOO E. G. J.: *Salmonella* Typhi encodes a functional cytolethal distending toxin that is delivered into host cells by a bacterial-internalization pathway. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 2004. 101. 4614–4619.

24. HASSANE, D. C. – LEE, R. B. – PICKETT, C. L.: *Campylobacter jejuni* cytolethal distending toxin promotes DNA repair responses in normal human cells. *Infect. Immun.*, 2003. *71*. 541–545.
25. HEYWOOD, W. – HENDERSON, B. – NAIR, S. P.: Cytolethal distending toxin: creating a gap in the cell cycle. *J. Med. Microbiol.*, 2005. *54*. 207–216.
26. HINENOYA, A. – NAIGITA, A. et al.: Prevalence and characteristics of cytolethal distending toxin-producing *Escherichia coli* from children with diarrhea in Japan. *Microbiol. Immunol.*, 2009. *53*. 206–215.
27. JANKA, A. – BIELASZEWSKA, M. et al.: Cytolethal distending toxin gene cluster in enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H- and O157:H7: characterization and evolutionary considerations. *Infect. Immun.*, 2003. *71*. 3634–3638.
28. JINADASA, R. N. – BLOOM, S. E. et al.: Cytolethal distending toxin: a conserved bacterial genotoxin that blocks cell cycle progression, leading to apoptosis of a broad range of mammalian cell lineages. *Microbiology*, 2011. *157*. 1851–1875.
29. JOHNSON, J. R. – OSWALD, E. et al.: Phylogenetic distribution of virulence-associated genes among *Escherichia coli* isolates associated with neonatal bacterial meningitis in the Netherlands. *J. Infect. Dis.*, 2002. *185*. 774–784.
30. JOHNSON, T. J. – DEBROY, C. et al.: Pyrosequencing of the Vir plasmid of necrotoxigenic *Escherichia coli*. *Vet. Microbiol.*, 2010. *144*. 100–109.
31. JOHNSON, T. J. – KARIYAWASAM, S. et al.: The genome sequence of avian pathogenic *Escherichia coli* strain O1:K1:H7 shares strong similarities with human extraintestinal pathogenic *E. coli* genomes. *J. Bacteriol.*, 2007. *189*. 3228–3236.

32. JOHNSON, W. M. – LIOR, H.: A new heat-labile cytolethal distending toxin (CLDT) produced by *Escherichia coli* isolates from clinical material. Microb. Pathog., 1988. 4. 103–113.
33. KADHUM, H. J. – BALL, H. J. et al.: Characteristics of cytotoxic necrotizing factor and cytolethal distending toxin producing *Escherichia coli* strains isolated from meat samples in Northern Ireland. Food Microbiol., 2006. 23. 491–497.
34. KIM, J. – KIM, J. et al.: Detection of cytolethal distending toxin and other virulence characteristics of enteropathogenic *Escherichia coli* isolates from diarrheal patients in Republic of Korea. J. Microbiol. Biotechnol., 2009. 19. 525–529.
35. LARA-TEJERO, M. – GALÁN, J. E.: CdtA, CdtB, and CdtC form a tripartite complex that is required for cytolethal distending toxin activity. Infect. Immun., 2001. 69. 4358–4365.
36. LEE, R. B. – HASSANE, D. C. et al.: Interactions of *Campylobacter jejuni* cytolethal distending toxin subunits cdta and cdte with hela cells. Infect. Immun., 2003. 71. 4883–4890.
37. LEWIS, D. A. – STEVENS, M. K. et al.: Characterization of *Haemophilus ducreyi* cdta, cdte, and cdte mutants in in vitro and in vivo systems. Infect. Immun., 2001. 69. 5626–5634.
38. MAINIL, J. G. – JACQUEMIN, E. – OSWALD, E.: Prevalence and identity of *cdt*-related sequences in necrotoxigenic *Escherichia coli*. Vet. Microbiol., 2003. 94. 159–165.
39. MCAULEY, J. L. – LINDEN, S. K. et al.: Muc1 cell surface mucin is a critical element of the mucosal barrier to infection. J. Clin. Invest., 2007. 117. 2313–2324.
40. MCSWEENEY, L. A. – DREYFUS, L. A.: Nuclear localization of the *Escherichia coli* cytolethal distending toxin CdtB subunit. Cell. Microbiol., 2004. 6. 447–458.

41. MCSWEENEY, L. A. – DREYFUS, L. A.: Carbohydrate-binding specificity of the *Escherichia coli* cytolethal distending toxin CdtA-II and CdtC-II subunits. *Infect. Immun.*, 2005. 73. 2051–2060.
42. NAGY B. – TÓTH I. – MAINIL, J. G. – OSWALD, E.: Nekrotoxikus *Escherichia coli* (NTEC) törzsek magyarországi előfordulása és jellemzése. *Magy. Állatorv. Lapja*, 2000. 122. 751–758.
43. NESIĆ, D. – HSU, Y. – STEBBINS, C. E.: Assembly and function of a bacterial genotoxin. *Nature*, 2004. 429. 429–433.
44. NOUGAYRÈDE, J. – TAIEB, F. et al.: Cyclomodulins: bacterial effectors that modulate the eukaryotic cell cycle. *Trends Microbiol.*, 2005. 13. 103–110.
45. OHARA, M. – MIYAUCHI, M. et al.: Topical application of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* cytolethal distending toxin induces cell cycle arrest in the rat gingival epithelium in vivo. *J. Periodont. Res.*, 2011. 46. 389–395.
46. OKEKE, I. N. – LAMIKANRA, A. et al.: Characterization of *Escherichia coli* strains from cases of childhood diarrhea in provincial southwestern Nigeria. *J. Clin. Microbiol.*, 2000, 38. 7–12.
47. ORTH, D. – GRIF, K. et al.: Cytolethal distending toxins in Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: alleles, serotype distribution and biological effects. *J. Med. Microbiol.*, 2006. 55. 1487–1492.
48. OSEK, J.: Detection of cytolethal distending toxin genes in Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from different sources. *Bull. Vet. Inst. Pulawy*, 2005. 49. 153–156.

49. OSWALD, E. – NOUGAYRÈDE, J. P. et al.: Bacterial toxins that modulate host cell-cycle progression. *Curr. Opin. Microbiol.*, 2005. 8. 83–91.
50. PANDEY, M. – KHAN, A. et al.: Association of cytolethal distending toxin locus *cdtB* with enteropathogenic *Escherichia coli* isolated from patients with acute diarrhea in Calcutta, India. *J. Clin. Microbiol.*, 2003. 41. 5277–5281.
51. PÉRÈS, S. Y. – MARCHÈS, O. et al.: A new cytolethal distending toxin (CDT) from *Escherichia coli* producing *cnf2* blocks hela cell division in G2/M phase. *Mol. Microbiol.*, 1997. 24. 1095–1107.
52. PICKETT, C. L. – COTTLE, D. L. et al.: Cloning, sequencing, and expression of the *Escherichia coli* cytolethal distending toxin genes. *Infect. Immun.*, 1994. 62. 1046–1051.
53. PURDY, D. – BUSWELL, C. M. et al.: Characterisation of cytolethal distending toxin (CDT) mutants of *Campylobacter jejuni*. *J. Med. Microbiol.*, 200. 49. 473–479.
54. SCOTT, D. A. – KAPER, J. B.: Cloning and sequencing of the genes encoding *Escherichia coli* cytolethal distending toxin. *Infect. Immun.*, 1994. 62. 244–251.
55. SERT, V. – CANS, C. et al.: The bacterial cytolethal distending toxin (CDT) triggers a G2 cell cycle checkpoint in mammalian cells without preliminary induction of DNA strand breaks. *Oncogene*, 1999. 18. 6296–6304.
56. TOUCHON, M. – HOEDE, C. et al.: Organised genome dynamics in the *Escherichia coli* species results in highly diverse adaptive paths. *PLoS Genet.*, 2009. 5. e1000344.
57. TÓTH I. – DOBRINDT, U. – KOSCSÓ B. – KÓSA A. – HERPAY M. – NAGY B.: Genetic and phylogenetic analysis of avian extraintestinal and intestinal *Escherichia coli*. *Acta. Microbiol. Immunol. Hung.*, 2012. 59. 393–409.

58. TÓTH I. – HÉRAULT, F. – BEUTIN, L. – OSWALD, E.: Production of cytolethal distending toxins by pathogenic *Escherichia coli* strains isolated from human and animal sources: establishment of the existence of a new CDT variant (type IV). J. Clin. Microbiol., 2003. 41. 4285–4291.
59. TÓTH I. – NOUGAYRÈDE, J. – DOBRINDT, U. – LEDGER, T. N. – BOURY, M. – MORABITO, S. – FUJIWARA, T. – SUGAI, M. – HACKER, J. – OSWALD, E.: Cytolethal distending toxin type I and type IV genes are framed with lambdoid prophage genes in extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*. Infect. Immun., 2009. 77. 492–500.
60. TÓTH I. – OSWALD, E. – MAINIL, J. G. – AWAD-MASALMEH, M. – NAGY B.: Characterization of intestinal *cnf1*+ *Escherichia coli* from weaned pigs. Int. J. Med. Microbiol., 2000. 290. 539–42.
61. TÓTH, I. – SCHMIDT, H. – KARDOS G. – LANCZ ZS. – CREUZBURG, K. – DAMJANOVA, I. – PÁSZTI J. – BEUTIN, L. – NAGY B.: Virulence genes and molecular typing of different groups of *Escherichia coli* O157 strains in cattle. Appl. Environ. Microbiol., 2009. 75. 6282–6291.
62. VAN BOST, S. – BÂBE, M. H. et al.: Characteristics of necrotoxigenic *Escherichia coli* isolated from septicemic and diarrheic calves between 1958 and 1970. Vet. Microbiol., 2001. 82. 311–320.
63. WISING, C. – MÖLNE, L. et al.: The cytolethal distending toxin of *Haemophilus ducreyi* aggravates dermal lesions in a rabbit model of chancroid. Microbes Infect., 2005. 7. 867–874.
64. WU, Y. – HINENOYA, A. et al.: Distribution of virulence genes related to adhesins and toxins in Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains isolated from healthy cattle and diarrheal patients in Japan. J. Vet. Med. Sci., 2010. 72(5). 589–597.

65. XU, T. – LUNDQVIST, A. et al.: Interactions of *Haemophilus ducreyi* and purified cytolethal distending toxin with human monocyte-derived dendritic cells, macrophages and CD4+ T cells. *Microbes Infect.*, 2004. 6. 1171–1181.
66. YOUNG, R. S. – FORTNEY, K. R. et al.: Expression of cytolethal distending toxin and hemolysin is not required for pustule formation by *Haemophilus ducreyi* in human volunteers. *Infect. Immun.*, 2001. 69. 1938–1942.

Táblázatok és ábrák szövegei

1. Táblázat. Az *Escherichia coli* által termelt citoletális duzzasztó toxin típusainak elterjedtsége és genetikai háttere.

Table 1. Distribution and genetic background of different cytolethal distending toxins produced by *Escherichia coli*.

1. ábra. A citoletális duzzasztó toxin specifikus citopátiás hatása. A HeLa sejtenyészetekről 72 órás inkubációt követően Giemsa-festést követő fénymikroszkóppal készült felvétel. A jelzés mindegyik képen 50 µm-nek felel meg. A, E6468/62 enteropatogén *Escherichia coli* törzs által termelt CDT-I hatása; B, HB101 *E. coli* K12 törzzsel kezelt HeLa tenyészet; C, E250 madár patogén *E. coli* (avian pathogenic *E. coli*, APEC) törzs által termelt CDT-IV hatása; D, kezeletlen HeLa sejtek.

Figure 1. Cytopathic effect of cytolethal distending toxin. HeLa cell cultures were incubated for 72 hours, stained with Giemsa and investigated by light microscopy. The bar represents 50 µm in all of the photographs. A, Effect of CDT-I produced by E6468/62 enteropathogenic *Escherichia coli* strain; B, HeLa culture treated with HB101 *E. coli* K12 strain; C, Effect of CDT-IV produced by E250 avian pathogenic *E. coli* strain; D, untreated HeLa cells.

2. ábra. A citoletális duzzasztó toxin sejtszintű hatásmechanizmusának összefoglalása mesenchymalis eredetű sejtvonalakban HEYWOOD és mtsai (25) ábrája nyomán. A célsejtbe bejutott aktív alegység, a CdtB károsítja a sejt DNS állományát, ezzel pedig aktiválja az ataxia telangiectasia mutated (ATM) kinázt, mely elindít egy kaskád, ami a checkpoint kináz 2-n (Chk2) és a cdc25-ön keresztül a ciklin-függő kináz 1 (Cdk1) foszforilált állapotban

maradásához, és így a sejtciklus leállításához vezet a G2 és M fázis között. Az ATM ezeken kívül aktiválja a hibajavításért felelős H2AX hisztonokat, valamint a stressz fiberek kialakulását elindító RhoA-t(Ras fehérje homológ A) is.

Figure 2. *Summary of the cytolethal distending toxin's intracellular mode of action in cell lines of mesenchymal origin, based on the figure of HEYWOOD et al. (25).* After internalization, the active subunit, CdtB causes DNA damage, which activates the ataxia telangiectasia mutated (ATM) kinase, starting a cascade. Through checkpoint kinase 2 (Chk2) and cdc25, this cascade leads to the cyclin-dependent kinase 1 (Cdk1) remaining in phosphorylated and inactive state, halting the cell cycle between the G2 and M phases. ATM also activates the H2AX histons responsible for DNA damage repair, and also RhoA (Ras-protein homologue A) which is necessary for the formation of stress fibers.

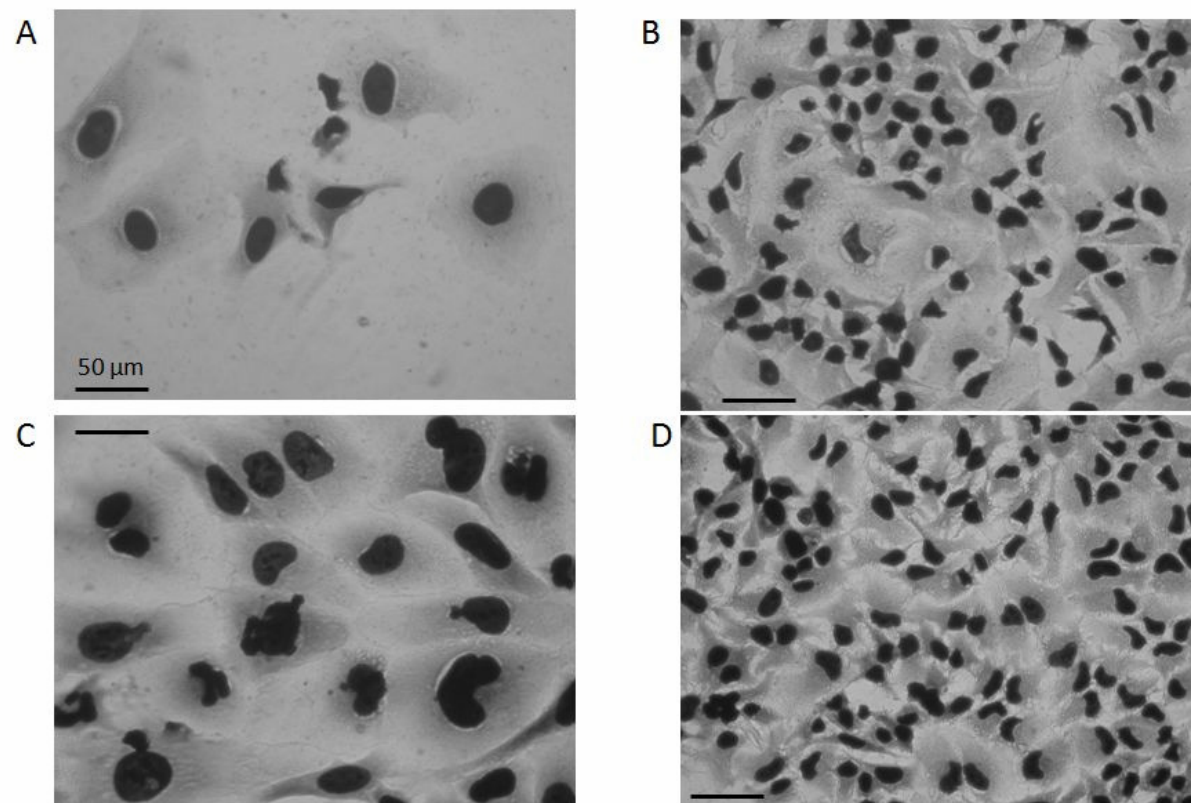
1. táblázat

Table 1

CDT típus	Eredet, pathotípus	Szerocsoport / típus	<i>cdt</i> lokalizációja	Referencia
I	humán EPEC, ExPEC, bárány, sertés, csirke szeptikémia	O86:H34, O127:H7, O18:K1:H1	kromoszóma, lambdoid profág	2, 58
II	humán EPEC	O128:NM	kromoszóma	52
III	szarvasmarha szeptikémia, NTEC	O115:K?:H21, O2, O8, O78, O86, O88, O136, O159, O171	plazmidon kódolt patogenitási sziget	30, 51
IV	sertés hasmenés és szeptikémia, baromfi szeptikémia, humán ExPEC	O75:K191, O2, O6, O115, O141, O149, O164, O170	kromoszóma, lambdoid profág	33, 58
V	EHEC, STEC, szarvasmarha atípusos	O157:H7/NM, O73:H18, O91, O113, O153, O157:H43	kromoszóma, P2-szerű profág	26, 61

1. ábra

Figure 1.



2. ábra

Figure 2

